

• 检验与技术 •

中性粒细胞胞浆抗体异常在诊断 系统性红斑狼疮中的临床价值

石莉萍, 张利方, 秦 滢, 汪 薇

【摘要】 目的 探讨抗中性粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)异常对诊断系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)肾功能损害患者的临床意义。**方法** 采用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)检测抗中性粒细胞胞浆抗体并对其结果进行回顾性分析。**结果** SLE 患者 ANCA 阳性率是 35.2%, 与混合性结缔组织病(mixed connective tissue disease, MCTD)和其他自身免疫病患者相比,有统计学差异($P < 0.01$)。SLE 患者 ANCA 阳性组中, p-ANCA 与 c-ANCA 阳性率有统计学差异($P < 0.01$)。ANCA 阳性组与阴性组比较, 肾功能损害发生率明显升高($P < 0.05$)。**结论** 血清 p-ANCA 抗体检测对诊断 SLE 患者早期发现及防范肾毒性损害有重要意义。

【关键词】 抗中性粒细胞胞浆抗体; 系统性红斑狼疮; 间接免疫荧光法

【中图分类号】 R 446.1

【文献标识码】 A

doi: 10.3969/j.issn.1009-2595.2014.01.020

Clinical Significance of Antineutrophil Cytoplasmic Antibody in Patients with Systemic Lupus Erythematosus

SHI Li-ping, ZHANG Li-fang, QIN Ying, WANG Wei. Clinical Laboratory, Wuhan General Hospital of Guangzhou Command, Wuhan Hubei 430070, China

【Abstract】 Objective To investigate the clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) in the diagnosis of systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** Indirect immunofluorescence (IIF) was used to detect related auto-antibodies ANA and ANCA in 256 SLE patients, 709 diseases control patients with mixed connective tissue disease (MCTD) and 400 healthy individuals. Western blot was applied to explore their clinical significance in SLE diagnosis. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was employed to test myeloperoxidase (MPO) antibody. **Results** The positive rate of ANCA in SLE patients was 35.2%, which was significantly different compared with patients with disease control and healthy control groups ($P < 0.01$). The positive rates p-ANCA and c-ANCA in SLE group with positive ANCA were significant different ($P < 0.01$). The SLE subgroup with positive ANCA had higher level of kidney damage than the subgroup with negative ANCA ($P < 0.05$). **Conclusion** The detection of serum p-ANCA is important for early discovery, diagnosis and kidney damage prevention of SLE patients.

【Key words】 Antineutrophil cytoplasmic antibody; Systemic lupus erythematosus; Indirect immunofluorescence

抗中性粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)最早是在坏死性肾炎患者血清中检测到的,其本质为免疫球蛋白^[1],它是一种以中性粒细胞和单核细胞胞浆成分为靶抗原的抗体^[2],被认为是原发性小血管炎特异性的标志物。近年来,随着多系统受累的病例不断增多,医生对 ANCA 认识也越来越深刻。许多类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、混合性结缔组织病(mixed connective

tissue disease, MCTD)及自身免疫性肝病患者的血清中也常常被检出。在 ANCA 中核周型抗中性粒细胞胞浆抗体(perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody, p-ANCA)与 SLE 密切相关^[3],且为主要核型^[4]。而坏死性新月体性肾炎是 SLE 病变最常见的并发症。有研究表明,ANCA 很可能与 SLE 活动期血管病变有关^[5]。本文采用间接免疫荧光法对 256 例 SLE 患者、709 例自身免疫性疾病患者作对照组和 400 例健康人进行了 ANCA 及其靶抗原的检测,分析 p-ANCA 与 SLE 之间的关系,探讨 p-ANCA 对 SLE 合并肾损害患者的诊断价值及临床意义。现将结果报

告分析如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象

病例组与疾病对照组均为 2010~2013 年来自作者医院门诊及住院确诊病例,正常对照组来自作者医院体检中心健康体检者。病例组:256 例 SLE,其中男性 87 例,女性 169 例,年龄 7~68 岁,均符合 SLE 国际临床协作组(systemic lupus international collaborating clinic, SLICC)公布的 SLE 分类标准修订版^[6]。病例对照组:MTCD 124 例、RA 336 例、干燥综合征(Sjogren's syndrome, SS)166 例、系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)45 例、皮炎肌炎(dermatomyositis, DM)38 例,其中男性 253 例,女性 456 例,年龄 5~74 岁,所有患者均符合美国风湿病学会的分类标准^[7]。正常对照组:400 例,男性 214 例,女性 186 例,年龄 9~71 岁,均无自身免疫性疾病,肝、肾功能正常。各组年龄、性别差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 检测方法

抽取静脉血 3ml,及时分离血清, -20℃ 保存待检。取上述血清标本,室温下复溶后采用德国欧蒙公司马赛克生物薄片载片,基质含甲醛及乙醇固定的中性粒细胞、猴肝细胞、Hep-2 细胞。间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)检测胞浆型抗粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody, ANCA)、p-ANCA 抗体,荧光显微镜判读。阳性反应荧光模式:乙醇固定的粒细胞可区别两种 ANCA。c-ANCA 显示均匀分布在整個中性粒细胞胞浆中的颗粒型荧光,细胞核无荧光,且猴肝血窦中的粒细胞出现荧光增强。而核周型抗粒细胞胞浆抗体(p-ANCA)在中性粒细胞核周显示光滑的带状荧光且猴肝血窦中的粒细胞出现荧光增强。由于在 SLE 患者出现肾小球疾病时,不同的病程 IIF 模式及靶抗原之间是可以相互转化的^[8-9],会有 c-ANCA 和 p-ANCA 同时出现的情况,本实验将荧光强度较强的 p-ANCA 作为其荧光表现。阴性反应无特殊荧光模式。阳性者用 ELISA 法加做靶抗原髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、蛋白酶 3(proteinase 3, PR3)的验证实验,试剂盒均采自于德国欧蒙公司。

1.3 统计学分析

采用 SPSS13.0 统计软件,各组率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 ANCA 在 SLE 中阳性率的表现

对 256 例 SLE 患者血清进行 IIF 法的 ANCA 检测, p-ANCA 和 c-ANCA 的阳性率分别是 35.2%(90/256)和 0(0/256),差异具有统计学意义($\chi^2 = 109.19$, $P<0.01$)。病例组、病例对照组的 MCTD、RA、SS、SSc、DM 和正常对照组, ANCA 阳性率分别为 35.2%(90/256)、22.6%(28/124)、10.4%(35/336)、7.2%(12/166)、2.2%(1/45)、0%(0/38)和 8%(32/400),其中除 RA 中有 1 例为 c-ANCA,其余均为 p-ANCA。SLE 患者 ANCA 阳性率与疾病对照组(MCTD、RA、SS、SSc、DM)、健康对照组比较,差异具有统计学意义($\chi^2 = 6.17, 55.01, 42.85, 19.68, 19.25, 77.94$, $P<0.01$ 或 $P<0.05$),见表 1。

表 1 ANCA 在 SLE、疾病对照组与健康对照组的检测结果 [$n(\%)$]

Table 1 ANCA detection results in SLE, disease control and healthy control groups [$n(\%)$]

组别	ANCA(+)		ANCA(-)
	p-ANCA	c-ANCA	
病例组($n=256$)	90(35.2)	0	166(64.8)
疾病对照组			
MCTD($n=124$)	28(22.6)*	0	96(77.4)
RA($n=336$)	34(10.1)**	1(0.3)	301(89.6)
SS($n=166$)	12(7.2)**	0	154(92.8)
SSc($n=45$)	1(2.2)**	0	1(2.2)
DM($n=38$)	0**	0	0
健康对照组($n=400$)	31(7.8)**	1(0.3)	368(92)

注:与病例组比较, ** $P<0.01$, * $P<0.05$

2.2 ANCA 对 SLE 患者肾损害的影响

90 例 ANCA 阳性的 SLE 患者中, p-ANCA 的阳性率为 100%, c-ANCA 阳性率为 0%, 两组比较有统计学差异($\chi^2 = 256.0$, $P<0.01$)。90 例 p-ANCA 阳性患者加做 MPO 实验证实 72 例为阳性,其阳性率为 80%。p-ANCA 阳性的患者中,肾功能损害的有 69 例,阳性率为 76.7%。与 ANCA 阴性组肾损害的 33.1% 比较,具有统计学差异($\chi^2 = 44.28$, $P<0.01$)。见表 2。

表 2 SLE 患者 ANCA 阳性组和阴性组的肾损害检测结果 [$n(\%)$]

Table 2 Kidney damage detection results in SLE patients with positive and negative ANCA [$n(\%)$]

组别	p-ANCA	c-ANCA	MPO	肾损害
ANCA(+)($n=90$)	90(100)**	0	72(80)	69(76.7)**
ANCA(-)($n=166$)	0	0	0(0)	55(33.1)

注:与阴性组比较, ** $P<0.01$

3 讨论

SLE 患者由于可溶性抗原、抗体免疫复合物沉积或自身抗体经免疫介导参与损伤组织,以 B 淋巴细胞高度活化为特征^[10],临床表现为多系统损害,尤以肾脏受累最常见的一种慢性系统性自身免疫性结缔组织病,其发病原因较为复杂。SLE 继发狼疮肾炎的发病率高达 50%~75%,严重影响患者预后^[11]。有分析指出新月体肾炎其活动指数和慢性指数均较高的情况下,预后差,复发率高,ANCA 阳性率亦高^[12],该类患者均采用激素治疗^[13]。

本研究结果表明的 SLE 患者 ANCA 阳性率显著高于疾病对照组和正常对照组($P<0.01$)。由于 ANCA 中存在着多种靶抗原,如 MPO、PR3、LF、CG、BPI、HLE 等;对应这些靶抗原 ANCA 被分为四种型:c-ANCA、p-ANCA、c-ANCA (atypical) 和 atypical-ANCA。有人认为 atypical-ANCA 是 p-ANCA 和 c-ANCA 重叠的结果,故将后三种 ANCA 统称为 p-ANCA。而 p-ANCA 不仅常见于多系统性血管炎,还可在自身免疫性肝病及风湿病中出现。本文显示 p-ANCA 在 SLE 患者中阳性率比 c-ANCA 要高($P<0.01$)。且 SLE ANCA 阳性组有肾功能损害^[14]的患者 p-ANCA 的阳性率高于 c-ANCA($P<0.05$)。p-ANCA 与 SLE 的发病率及 SLE 继发的肾功能损害具有相关性。这与廖永强^[15]报道的 ANCA 对于 SLE 活动期是一个有价值的指标^[16]相一致。但 ANCA 检测对于狼疮肾炎的诊断、病理分型和病情评估等方面的价值还有待广泛深入的研究^[17]。本研究发 SLE p-ANCA 阳性的 90 例患者中,MPO 抗体阳性的有 72 例,占 80%。进一步发现 72 例 MPO 抗体阳性的患者中有 58 例有肾功能损害,占 80.6%。90 例 p-ANCA 阳性患者中 69 例有肾功能损害,占 76.7%。MPO 抗体可能在 SLE 肾功能损害中起到重要作用^[18]。此结果可能为临床上判断 SLE 肾功能损伤疾病增添了又一个有效的实验指标。而 MPO 抗体在 SLE 肾功能损害中的临床意义有待扩大样本量进一步深入研究。

近几年来也有研究表明在链球菌感染后出现的肾小球疾病患者血清中 ANCA 检测的阳性率也相对较高^[19]。至于普通肾小球疾病与 SLE 引起的肾损害中 ANCA 的阳性率是否有一致性还不得而知,但可以明确的是 ANCA 对于 SLE 患者肾脏损害的早期发现和治疗是有意义的。p-ANCA 和 MPO 抗体实验室联合检测对于 SLE 肾功能损害患者有效的控制病情和防

范肾毒性的损害具有临床意义。

参 考 文 献

- [1] Alpa M, Ferrero B, Cavallo R, *et al.* Anti-GM1 and anti-sulphatide antibodies in systemic idiopathic vasculitis, systemic lupus erythematosus and mixed cryoglobulinaemia: serum detection and clinical and electrophysiologic correlations[J]. *G Ital Nefrol*, 2002, 19(6): 617-621
- [2] De Bellis A, Bizzarro A, Pivonello R, *et al.* Prolactin and auto immunity[J]. *Pituitary*, 2005, 8(1): 25-30.
- [3] Dural A, Helley D, Capron L, *et al.* Endothelial dysfunction in systemic lupus patients with low disease activity: evaluation by quantification and characterization of circulating endothelial microparticles, role of anti-endothelial cell antibodies[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2010, 49(6): 1049-1055
- [4] Morimoto S, Watanabe T, Lee S, *et al.* Improvement of rapidly progressive lupus nephritis associated MPO-ANCA with tacrolimus[J]. *Mod Rheumatol*, 2010, 20(3): 291-294
- [5] Calamia KT, Balabanova M. Vasculitis in systematic lupus erythematosus[J]. *Clin Dermatol*, 2004, 22(2): 148-156
- [6] Petri M. Systemic lupus international collaborating clinic (SLICC): SLICC revision of the ACR classification criteria for SLE[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(Suppl 10): 895-896
- [7] Tan EM, Cohen AS, Fries JF, *et al.* The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 1982, 25(11): 1271-1277
- [8] Richer C, Mouthon L, Cohen D, *et al.* IgA glomerulonephritis associated with microscopic poly-angitis or Churg-Strauss syndrome [J]. *Clin Nephrol*, 1999, 52(7): 47-50
- [9] 任 青, 李子龙, 林沫红, 等. 抗中性粒细胞胞浆抗体与肾小球疾病[J]. *中国医科大学学报*, 2000, 29(2): 122-124
- [10] Hale MB, Krutzik PO, Samra SS, *et al.* Stage dependent aberrant regulation of cytokine-STAT signaling in murine systemic lupus erythematosus[J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6756
- [11] Doria A, Cutolo M, Ghirardello A, *et al.* Effect of pregnancy on serum cytokines in SLE patients[J]. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(2): R66
- [12] Yu F, Tan Y, Liu G, *et al.* Clinicopathological characteristics and outcomes of patients with crescentic lupus nephritis[J]. *Kidney Int*, 2009, 76(3): 307-317
- [13] Ortega LM, Schultz DR, Lenz O, *et al.* Review: Lupus nephritis: pathologic features, epidemiology and a guide to therapeutic decisions[J]. *Lupus*, 2010, 19(5): 557-574
- [14] Abdellatif AA, Waris S, Lakhani A, *et al.* True vasculitis in lupus nephritis[J]. *Clin Nephrol*, 2010, 74(2): 106-112
- [15] 廖永强, 彭可君, 刘剑荣, 等. 抗中性粒细胞胞浆抗体与抗核抗体谱联合检测对系统性红斑狼疮的临床意义[J]. *免疫学杂志*, 2012, 28(8): 706-709
- [16] Olin J, Abman S, Grady R, *et al.* A 7-year-old with pulmonary hypertension[J]. *BMJ Case Reports*, 2011, 10(2): 3843
- [17] Nasr SH, Said SM, Valeri AM, *et al.* Membranous glomerulonephritis with ANCA-associated necrotizing and crescentic glomerulonephritis[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2009, 4(2): 299-308
- [18] Morimoto S, Watanabe T, Lee S, *et al.* Improvement of rapidly progressive lupus nephritis associated MPO-ANCA with tacrolimus[J]. *Mod Rheumatol*, 2010, 20(3): 291-294
- [19] 李 莉, 张 文. 抗中性粒细胞胞浆抗体检测临床意义分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(18): 2281-2282

(2013-07-31 收稿 2013-08-31 修回)